



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
LICENCIATURA EM QUÍMICA**

LEONARDO SANTOS MIRANDA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE COMPLEXOS
METÁLICOS DE COBRE COM LIGANTES 1,10 - FENANTROLINA E IMIDAZOL:
APLICAÇÕES COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS**

**PARNAÍBA
2022**

LEONARDO SANTOS MIRANDA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE COMPLEXOS
METÁLICOS DE COBRE COM LIGANTES 1,10 - FENANTROLINA E IMIDAZOL:
APLICAÇÕES COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
Campus Parnaíba.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Márcia Valéria Silva Lima

PARNAÍBA
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Miranda , Leonardo Santos

M672s Síntese e caracterização espectroscópica de complexos metálicos de cobre com ligantes 1,10 – fenantrolina e imidazol: aplicações como agentes antimicrobianos / Leonardo Santos Miranda . – 2022.

53 f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto Federal do Piauí, Campus Parnaíba, 2022.

Orientadora : Profa. Dra. Márcia Valéria Silva Lima.

1. Química . 2. Complexos metálicos - Cobre . 3. Imidazol . Microbiologia . I. Título.

CDD -540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

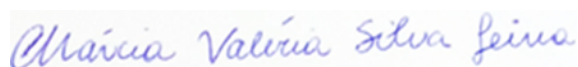
LEONARDO SANTOS MIRANDA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DE COMPLEXOS
METÁLICOS DE COBRE COM LIGANTES 1,10 - FENANTROLINA E IMIDAZOL:
APLICAÇÕES COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS

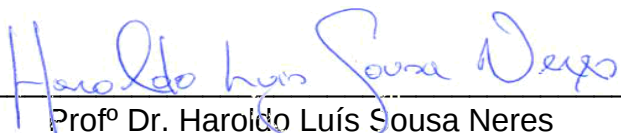
Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
Campus Parnaíba.

Aprovado em: ____/____/____.

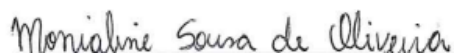
BANCA EXAMINADORA



Prof^a Dr^a Márcia Valéria Silva Lima (Orientadora)
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *campus* Parnaíba



Prof^o Dr. Haroldo Luís Sousa Neres
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *campus* Parnaíba



Prof^a Me. Monialine Sousa de Oliveira
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *campus* Corrente

À Deus, minha família, meus amigos e professores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por sempre está do meu lado, me guiando e fortalecendo, pois foram dias árduos e as nossas conversas em forma de oração me ajudaram a alcançar este êxito.

Aos meus pais Raimundo Nonato da Conceição de Miranda e Maria de Fatima Santos Miranda por terem me apoiado e incentivado para a realização deste sonho. Gosto muito de vocês e o que mais me inspirou nesta árdua caminhada foi escutar a belíssima frase vinda da minha mãezinha: “sou analfabeta e pobre, mas, tenho muito orgulho de estar deixando a maior riqueza para meus filhos, a educação.”

Ao meu irmão Leandro Santos Miranda por ser aconchego e amigo quando mais precisei.

A minha querida amiga, tia e comadre Cristiane Capistrano de Souza por sempre está apoiando meus projetos e participando de todas as minhas conquistas e realizações. Considero você como uma mãe! obrigado por todo carinho, abrigo quando mais precisei e conversas de incentivo.

Aos meus amigos, Amanda Rocha do Livramento, Daniel da Silva Oliveira, Tayane Andrade de Souza, Mariana Rodrigues Nunes e Rita de Cássia Elias de Souza, pois foram mais que amigos nesta caminhada acadêmica, uma verdadeira família. Obrigado por terem aguentado minhas chatices e surtos.

Ao meu querido amigo Fernando Sousa da Silva, pois contribuiu imensamente na minha formação acadêmica. Seu apoio foi essencial para a idealização deste sonho.

Ao mineiro Jáderson de Paula Carvalho, pois muito contribuiu com seu apoio, amizade e parceria não só na escrita deste trabalho, mas também no cursinho pré vestibular Luísa Mahin de Juíz de Fora – MG, em que faço parte do corpo docente.

A Auricélia Veras de Castro (minha irmãzinha acadêmica), pois sua amizade foi sustento para meus dias difíceis na academia e felicidade em praticamente todos os momentos desses últimos anos. Amo você, branquela!

A Thayná Silva Véras (a mais gata das gatas), pois seus conselhos me ajudaram a crescer em nível pessoal e sua amizade me ensinou que sim, você pode ser estudante de química, gato, surtado e feliz.

Aos meus professores do IFPI, em especial a professora Dr^a Márcia Valéria Silva Lima por toda orientação, paciência e dedicação para a realização deste

trabalho. A forma que você trata seus alunos é única e sua didática é de tirar o chapéu. Levarei um pouco de você para a sala de aula. Agradeço também a professora Dr^a Evânia Carvalho dos Santos e a professora Dr^a Cristiany Marinho pois foram inspiração para a escolha do meu curso superior em química.

A professora Maria Durciane Oliveira Brito, pois, contribuiu imensamente com a realização deste sonho. Obrigado por toda a força que você me deu nas orientações dos meus trabalhos acadêmicos e publicação dos mesmos. Você é luz e inspiração! Como sempre falo, serei eternamente grato.

Ao professor Dr. Haroldo Luís Sousa Neres, pois muito me ensinou ao longo desta caminhada acadêmica com sua didática incrível e com seu coração gigante.

A professora Monialine Sousa de Oliveira por toda a base nas disciplinas iniciais do curso e pela imensa contribuição no meu trabalho fazendo parte da banca examinadora.

A enfermeira Cleide Maria Melo de Oliveira, pois muito me ajudou nesta caminhada, principalmente no início de 2017 em que eu estava dando meus primeiros passos no mercado de trabalho. Obrigado por todos os ensinamentos, forças, conselhos e amizade.

A professora Dr^a Alyne Rodrigues de Araújo e sua orientanda de mestrado Sansara Sanny de Medonça Araújo pela parceria e ajuda nos testes microbiológicos.

Aos acadêmicos, Cecília Sávia Oliveira Aguiar, Kamila Lima de Macêdo e Wellington Silva Aguiar pela ajuda no ensaio citotóxico.

A todos vocês, minha eterna gratidão!

“Sonhos determinam o que você quer. Ação determina o que você conquista.”

Aldo Novak

RESUMO

As principais doenças que acometem a vida humana são causadas por micro-organismos tais como: fungos e bactérias. Ao longo dos anos a Ciência vem enfrentando alguns inconvenientes, como a resistência microbiológica, o que dificulta o tratamento de enfermidades infecciosas. A fim de formular fármacos mais eficazes à resistência microbiana, tem se utilizado os íons metálicos. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi sintetizar complexo de cobre com imidazol, a fim de testar suas propriedades microbiológicas. A obtenção do complexo ocorreu em duas etapas, onde na primeira etapa foi sintetizado o precursor de cobre *cis*-[Cu(phen)Cl₂] e a segunda etapa consistiu na substituição dos ligantes cloretos, pelo ligante imidazólico resultando no complexo final *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂. Através dos estudos de espectroscopia na região do UV-Vis, verificou-se que os complexos apresentam bandas largas, intensas e bem definidas na região do visível, as quais são atribuídas as transições de transferência de carga do metal para o ligante (MLCT). Pelo UV-vis é possível confirmar a substituição dos cloretos; uma vez que ocorreu deslocamento das bandas MLCT, onde o complexo final apresentou uma banda em menor comprimento de onda, resultado da estabilidade eletrônica que o complexo final obteve com a substituição dos cloretos. A partir da técnica de espectroscopia de infravermelho foi possível identificar no complexo final, bandas referentes às vibrações do ligante imidazólico e do contra-íon PF₆. Foram realizados estudos quanto à atividade microbiológica do complexo, onde o mesmo apresentou significativa atividade frente à bactéria *Staphylococcus aureus*, responsável por diversos tipos de infecções. Além do mais, realizou-se testes de citotoxicidade frente as *Artemias* salinas, não apresentando toxicidade.

Palavras-chave: Complexo metálico. Imidazol. Atividade microbiológica.

ABSTRACT

The main diseases that affect human life are caused by microorganisms such as: fungi and bacteria. Over the years, Science has faced some inconveniences, such as microbiological resistance, which makes the treatment of infectious diseases difficult. In order to formulate drugs more resistant to microbial resistance, it has been used in metallic ions. Given the above, the objective of this work was to synthesize a complex of copper with imidazole, in order to test its microbiological properties. The synthesis of the complex takes place in two stages, in the first stage the *cis*-[Cu (phen)Cl₂] copper precursor was synthesized and the second stage consisted of replacing the chloride ligands by the imidazole ligand updated in the final complex *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂. Through spectroscopy studies in the UV-Vis region, it was found that the basic knowledge of broad, intense and well-defined bands in the visible region, according to which are assigned as charge transfers from metal to binder (MLCT). By UV-vis it is possible to confirm the replacement of chlorides; once there is displacement of the MLCT bands, where the final complex presents a band at a shorter wavelength, as a result of the electronic stability than the final complex obtained with the replacement of chlorides. From the infrared (IR) spectroscopy technique it was possible to identify any complex final band referring to the vibrations of the imidazole ligand and the PF₆ counterion. Studies were carried out on the microbiological activity of the complex, where it synthesizes activity against the *Staphylococcus aureus* bacteria, responsible for different types of infections. In addition, cytotoxicity tests were carried out against brine shrimp, it does not say toxicity.

Keywords: Metal complex. Imidazole. Microbiological activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Imagem ilustrativa da estrutura de uma partícula da covid-19	19
Figura 02 – Bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> metilicina – resistente (MRSA) e vancomicina – resistente (VRSA)	20
Figura 03 – Complexo Cis - platina	21
Figura 04 – Tabela periódica e localização do metal cobre.....	22
Figura 05 – Complexos de Cu (I) e Cu (II), números de coordenação e geometrias em diferentes ambientes químicos.....	26
Figura 06 – Ligantes das famílias dos imidazóis representados em fármacos	27
Figura 07 – Sistema utilizado para a realização da síntese.....	31
Figura 08 – Equação do primeiro complexo formado	32
Figura 09 – Equação do complexo final	32
Figura 10 – Complexos de cobre: (A) complexo precursor e (B) complexo final.....	33
Figura 11 – Aparelho utilizado para a técnica de UV-vis	33
Figura 12 – Microplaca de 96 poços fundo chato	35
Figura 13 – Complexo precursor com fenantrolina.....	36
Figura 14 – Complexo final com imidazol.....	37
Figura 15 – Espectro de infravermelho em pastilha de KBr na região de 4000cm ⁻¹ a 400 cm ⁻¹ para o complexo precursor e complexo final	38
Figura 16 – Espectro de infravermelho em pastilha de KBr na região de 1000 cm ⁻¹ a 400 cm ⁻¹ para o complexo precursor e complexo final	39
Figura 17 – Regressão linear para os dados de absorbância	41
Figura 18 – Bandas referentes às transferências de carga MLCT	42
Figura 19 – Estabilidade através da espectroscopia de UV-Vis	43
Figura 20 – Bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Figura 21 – Resultado dos testes antimicrobianos na bactéria <i>S. aureus</i>	46
Figura 22 – Teste de Concentração mínima Inibitória.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC - American Type Culture Collection

BIOTEC - Biotecnologia

UFDPAR - Universidade Federal do Delta do Parnaíba

IFPI - Instituto Federal do Piauí

IR - Infra - Vermelho

UV-Vis - Ultravioleta visível

MLCT - Transferência de carga do metal para o ligante

COVID-19 - Novo coronavírus

H1N1 - Influenza

IMDZ - Imidazol

PHEN - Fenantrolina

RNA - Ácido Ribonucleico

DMSO - Dimetilsulfóxido

CIM - Concentração Mínima Inibitória

MRSA - Staphylococcus aureus vancomicina resistente

VRSA - Vancomicina – resistente

IUPAC - União Internacional de Química pura e aplicada

UFPI - Universidade Federal do Piauí

KBr - Brometo de potássio

PM - Peso molecular

BIOMIC - Laboratório de Bioquímica e Biologia molecular de microrganismos e plantas.

LISTA DE SÍMBOLOS

NH₄PF₆ - Hexafluorofosfato de amônia

Ar - Argônio

Mg - Miligrama

g - Grama

CuCl₂ - Cloreto de cobre

C₁₂H₈N₂ - 1,10 fenantrolina

C₃H₄N₂ - Imidazol

C₂H₆O - Álcool etílico

mL - Mililitro

°C - Graus celsius

% - Porcentagem

Cu²⁺ - Íon cobre

Cl⁻ - Cloreto

Cl - Cloro

C - Carbono

H - Hidrogênio

N - Nitrogênio

H₂O - Água

Nm - Nanômetro

pH - Potencial hidrogeniônico

r² - Ajuste linear

σ - Sigma

π - Pi

Cm - Centímetro

ε - Absortividade molar

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 01 – Reagentes, fórmula molecular e PM	30
Tabela 02 – Vidrarias e materiais	30
Tabela 03 – Modos vibracionais encontrados para os complexos <i>cis</i> -[CuCl ₂ (phen)] e <i>cis</i> -[Cu(lmdz) ₂ (phen)](PF ₆) ₂	40
Quadro 01 – Controle de artemias vivas e mortas	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1 MICRORGANISMOS COMO AGENTES CAUSADORES DE DOENÇAS HUMANAS INFECCIOSAS	18
2.2 O METAL COBRE E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS	21
2.3 COMPLEXOS METÁLICOS E LIGANTES IMIDAZÓLICOS	24
3 OBJETIVOS.....	28
3.1OBJETIVO GERAL.....	28
3.2OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 TIPO DE PESQUISA.....	29
4.2 LOCAL E SUJEITO DA PESQUISA.....	29
4.3 REAGENTES	29
4.4 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS.....	30
4.5 SÍNTESE DOS COMPLEXOS METÁLICOS.....	31
4.6 ESPECTROFOTÔMETRO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL	33
4.7 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV).....	34
4.8 ATIVIDADE CITOTÓXICA FRENTE À ARTEMIA SALINA	34
4.9 TESTE ANTIMICROBIANO.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	36
5.1 SÍNTESE DO COMPLEXO METÁLICO DE COBRE	36
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS METÁLICOS	38
5.2.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	38
5.2.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL	40
5.3 ATIVIDADE CITOTÓXICA FRENTE À ARTEMIA SALINA	44
5.4 TESTE ANTIMICROBIANO.....	45
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

O ano de 2020 revelou uma das maiores crises na saúde pública do mundo, os inúmeros desafios oriundos de uma doença viral, que testam a resiliência, superação e criatividade do ser humano, trata-se de uma pandemia avassaladora que tomou de conta de vários países, infectando milhares de pessoas e causando diversas mortes: o novocoronavírus ou COVID-19. Segundo o ministério da saúde (2020), o coronavírus é uma família de vírus que pode resultar em infecções respiratórias que vão desde um resfriado, até síndromes respiratórias agudas graves.

Além da covid-19, a humanidade, em toda sua história, relata incansáveis lutas contra doenças causadas por microorganismos, tais como: peste negra, varíola, gripe espanhola, gripe suína, influenza A subtipo H1N1, dentre outras pandemias e epidemias que perpetuam a humanidade por décadas e remete a momentos da história em que o ser humano foi derrotado pelas grandes doenças, o que causou milhares de mortes em todo o mundo.

A fim de estudar medidas preventivas contra essas e várias outras doenças e posteriormente formular fármacos mais eficazes à resistência microbiana, tem-se utilizado de conhecimentos químicos e farmacológicos atrelados a química inorgânica medicinal para a evolução de prósperas descobertas e grandes avanços científicos. Desde a “revolução científica” causada pelos complexos, até a atual química de coordenação; essa área continua sendo um território “complexo”, mas com profissionais capacitados e anos de pesquisa. A química de coordenação é uma categoria da área da química inorgânica de pesquisa muito vasto (TOMA, 2016). Para formular fármacos mais eficazes à resistência microbiana, tem-se utilizados os íons metálicos, apresentando assim boa atividade biológica e desenvolvendo compostos inorgânicos como agentes terapêuticos.

Pensando-se nisso e nas várias possibilidades de produção de fármacos utilizando complexos de cobre para cura de doenças, realizou-se a seguinte pesquisa científica que tem como tema: Síntese e caracterização de complexos metálicos de cobre como agentes antimicrobianos. Fez-se a síntese de complexos que apresentam ligantes imidazólicos com polaridades semelhantes às estruturas protetoras dos microrganismos, podendo assim, promover uma boa interação de entrada nas cepas. Este trabalho tem por objetivo desenvolver candidatos à fármacos utilizando compostos de coordenação, para atuarem como agentes antimicrobianos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 MICRORGANISMOS COMO AGENTES CAUSADORES DE DOENÇAS HUMANAS INFECCIOSAS

Os microrganismos, micro-organismos ou micróbios, são organismos, que só podem ser vistos ao microscópio. Incluem os vírus, as bactérias, os protozoários, as algas unicelulares, fungos e ácaros. Dentre os tipos de micro-organismos destacam-se os fungos e as bactérias. Os mesmos já existiam na terra há bilhões de anos antes do surgimento das plantas e dos animais. Embora os microrganismos sejam as menores formas de vida, coletivamente eles constituem a maior parte da biomassa da terra e executam muitas reações químicas essenciais para os organismos superiores. Na ausência dos microrganismos, as formas de vida superiores nunca teriam surgido e não poderiam ser sustentadas (MADIGAN, 2016).

O próprio oxigênio que respiramos é o resultado de atividade microbiana precedente. Além disso, seres humanos, plantas e animais são intimamente dependentes da atividade microbiana para a reciclagem de nutrientes-chave e para a degradação de matéria orgânica. É, portanto seguro dizer que nenhuma outra forma de vida é tão importante para o suporte e manutenção da vida na terra quanto os microrganismos (MADIGAN, 2016).

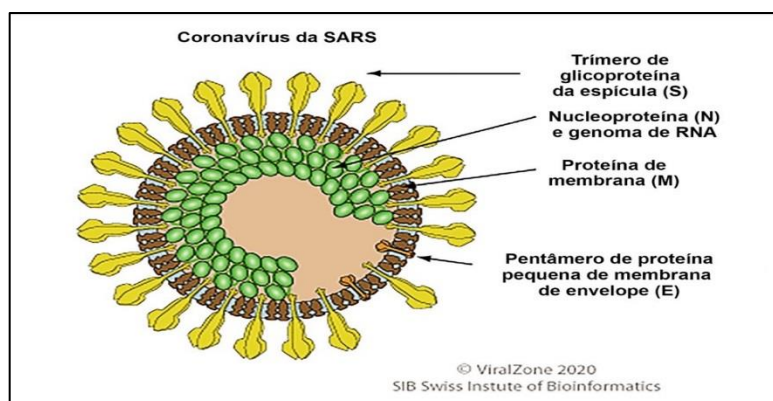
Ainda segundo Madigan (2016), no início do século XX, as principais causas de morte humana correspondiam às doenças infecciosas provocadas por bactérias e patógenos virais. Naquela época, um grande número de crianças e idosos, particularmente, sucumbiram devido às doenças microbianas. Atualmente, no entanto, as doenças infecciosas são menos letais, principalmente nos países desenvolvidos. O controle das doenças infecciosas é o resultado de uma combinação de avanços incluindo um maior entendimento a respeito dos processos das doenças, melhoria das práticas sanitárias e de saúde pública, campanhas de vacinação ativas, e de uso disseminado de agentes antimicrobianos, como os antibióticos. Os microrganismos ainda constituem graves ameaças à saúde humana em todas as partes do mundo pois:

Embora várias doenças infecciosas estejam sob controle, atualmente muitas outras ainda podem ser grande ameaça à vida, especialmente em países em desenvolvimento. Por exemplo, doenças como a malária,

tuberculose, cólera, doença do sono africana, sarampo, pneumonia e outras doenças respiratórias, bem como síndromes diarreicas, ainda são comuns em países em desenvolvimento. Além disso, os seres humanos ao redor do mundo estão sob ameaças de doenças que poderiam emergir subitamente, como a gripe aviária ou suína (MADIGAN, 2016).

Um exemplo atual e devastador causado por microrganismos, é a pandemia provocada pelo coronavírus, que já provocou milhares de mortes por todo o mundo. O coronavírus, vírus da família coronaviridae causam uma variedade de doenças no homem. Tal vírus se dá por vetores microbiológicos e afeta especialmente o trato respiratório. A Figura 01 representa a estrutura de uma partícula de um coronavírus (GRUBER, 2020).

Figura 01 – Imagem ilustrativa da estrutura de uma partícula da covid-19.



Fonte: Gruber (2020)

As partículas virais são esféricas, com cerca de 125 nm de diâmetro e revestidas por um envelope fosfolipídico. O genoma de RNA de fita simples e senso positivo contém entre 26 a 32 quilobases e está associado a proteínas, formando o nucleocapsídeo. No caso do Sars-Cov-2, causador da atual pandemia de covid-19, a proteína S reconhece através de seu domínio ligante do receptor (RBD) o receptor ACE2 (enzima conversora de angiotensina da célula).

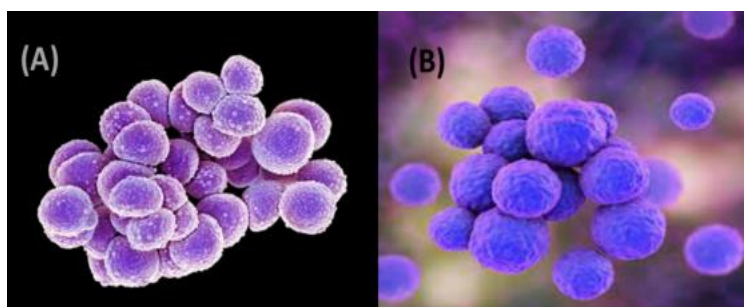
Além das enfermidades causadas pelos microrganismos, uma das grandes preocupações da comunidade científica é o crescimento da resistência dos mesmos aos fármacos utilizados rotineiramente na terapia humana, dificultando o tratamento de enfermidades infecciosas humanas. Nesse sentido estão sendo realizados diversos estudos que visa a busca por fármacos sintéticos ou naturais mais eficazes à resistência microbiana. Muitos trabalhos a fim de contribuir na eficiência terapêutica

têm utilizado os íons metálicos para a síntese de fármacos com atividades farmacológicas mais eficientes (BARBOSA, 2019).

Os agentes antimicrobianos utilizados no combate as infecções microbianas podem ser sintéticas ou naturais, onde podem atuar na inibição do crescimento ou a morte dos microrganismos (CASTRO, 2014).

O desenvolvimento de fármacos eficientes para combater as doenças microbianas revolucionou a medicina, no entanto, o uso dos mesmos de forma indiscriminada, resultou na resistência desses microrganismos. Como exemplo temos as bactérias *Staphylococcus aureus* metilicina-resistente (MRSA), *Staphylococcus aureus* vancomicina-resistente (VRSA), que são exemplos de bactérias resistentes a múltiplas drogas (Figura 02). (CASTRO, 2014).

Figura 02 – Bactéria *Staphylococcus aureus*: (A) metilicina-resistente (MRSA) e (B) Vancomicina-resistente (VRSA).

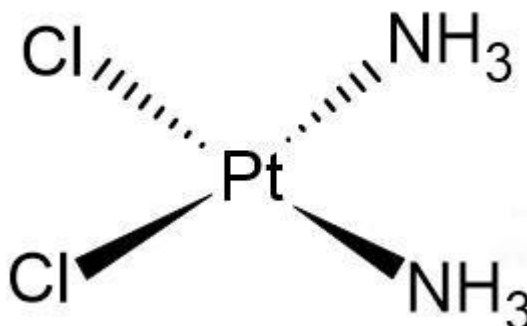


Fonte: Google imagens (2020).

A resistência dos fungos e bactérias aos agentes microbianos se tornou um grande problema mundial de saúde, uma vez que limita as opções de fármacos disponíveis no mercado, sendo importante a busca por novos agentes antimicrobianos. (DEMAIN, 2009).

A fim de formular fármacos mais eficazes à resistência microbiana, tem se utilizados os íons metálicos. (NISHAMINY, 2006). As atividades exercidas por íons metálicos nos meios biológicos têm estimulado a pesquisa e o desenvolvimento de compostos inorgânicos como agentes terapêuticos.

Segundo HASS (2008) o uso de complexos de metais de transição na medicina iniciou-se na década 60, onde os primeiros estudos foram realizados com os complexos de platina (Figura 03), para o tratamento de câncer, e desde então é crescente a pesquisa dos metais de transição no meio biológico.

Figura 03 – Complexo Cis – platina

Fonte: Autoria própria (2022)

Devido os resultados promissores dos metais de transição na formulação de novos candidatos a fármacos, aumentou-se o interesse dos mesmos pela comunidade científica, e dentre os metais, destaca-se o cobre, por ser um metal de baixo custo e a síntese dos seus complexos ser relativamente simples, resultando em complexos estáveis (HAAS, 2008).

2.2 O METAL COBRE E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS

O cobre é um nutriente essencial para a matéria viva. Por meio de suas pró-enzimas, o cobre exibe uma variedade de funções metabólicas (ABDEL, et al, 1990).

Carvalho (2018) afirma que existem muitas pesquisas sobre os complexos de cobre, nas quais explicitam o seu potencial. Para auxiliar no tratamento de uma grande variedade de doenças como, por exemplo, doença de Alzheimer, esclerose lateral amiotica, tuberculose, câncer, doenças fúngicas e com o potencial de regular o cobre corporal através de uma variedade de mecanismos.

Os complexos de cobre (I e II) são redox ativos, frequentemente lábeis e atípicos em sua preferência por geometrias de coordenação distorcidas, eles são muito menos previsíveis estruturalmente do que outros complexos de metais de transição de primeira linha (SANTINI, 2014).

O cobre, elemento com número atômico 29, pertence ao grupo 11 (Figura 4) e pode ser considerado como metal de transição devido ao fato de que seu íon Cu (II) possui nove elétrons na subcamada d. Embora apresente configuração [Ar] 3d¹⁰, 4s¹, sua química é denominada pelo Cu (II), cuja configuração eletrônica é [Ar] 3d⁹, com

subnível (n-1) d incompleto e, portanto, um elemento de transição segundo definição da IUPAC. O Cu (II), sistema d^9 , coordena-se a 4,5 ou 6 ligantes em geometrias quadrática, piramidal ou octaédrica com distorção de Janh-Teller, enquanto que o Cu (I), sistema d^{10} , apresenta números de coordenação mais baixo, 3 e 4, e geometrias tetraédricas ou trigonal plana (SILVA, et al, 2019).

Figura 04 –Tabela periódica e localização do metal cobre

Figura 04 –Tabela periódica e localização do metal cobre

Fonte: google imagens (2022)

O cobre é um elemento considerado traço e é associado a um grande número de metaloproteínas e nos sistemas biológicos, encontra-se nos estados de oxidação I e II. (MONSALVE, 2013). Uma vez que seu ciclo redox permite a existência das espécies Cu^+ e Cu^{2+} , o cobre pode funcionar como cofator de algumas enzimas, assim como pela afinidade que apresenta por resíduos de aminoácidos como cisteína, metionina, ácido aspártico, ácido glutâmico e histidina. Estas características fazem do cobre um elemento com potencial para transportar moléculas orgânicas através do organismo, na forma de complexos metálicos. O estado de oxidação II do cobre é o mais estável, de forma que Cu (I) se oxida facilmente a Cu (II). Os estados de oxidação III e IV são pouco comuns. (MONSALVE, 2013).

Ainda segundo Silva, et al (2019), embora apresente caráter nobre como consequência de alta entalpia de sublimação e das elevadas energias de ionização, o cobre participa de reações de oxirredução catalíticas em diversos processos, inclusive biológicos. Semelhante ao que ocorre com outros metais, o cobre é um elemento essencial para os organismos vivos e sua química redox está envolvida em uma

variedade de processos. Tanto Cu (I) quanto Cu (II) tem afinidade por bases macias, sítios, em geral, presentes em ligantes biológicos, o que permite desempenhar várias funções celulares, tais como processos metabólicos e funções em órgãos humanos. Muitas pessoas utilizam o cobre em dietas, suplementos e até mesmo o metal está contido na água que consumimos. Ainda nas palavras de Silva, et al (2019):

A quantidade desse elemento em um indivíduo adulto é cerca de 100 mg e requer um consumo diário de 3-5 mg. A absorção de cobre na dieta (alimento, suplementos e água) ocorre principalmente na forma de Cu (II), mas parte é reduzida a Cu (I) por enzimas redutases. O corpo humano um sofisticado maquinário que disponibiliza o cobre quando esse é necessário e, ao mesmo tempo, o elimina quando está em excesso. Essa regulação, conhecida como homeostase de cobre, depende de uma rede de proteínas e outras moléculas biológicas que se encarregam da absorção, transporte, distribuição, armazenamento e excreção de cobre (SILVA, et al, 2019).

De acordo com Monsalve (2013), o cobre apresenta baixa toxicidade. Em casos de ingestão, acredita-se que a dose tóxica está na faixa de 20 a 70 g de cobre. Os sintomas de intoxicação por cobre incluem dor abdominal, cefaleias, náuseas, vômitos, tonturas, diarreia, taquicardia, dificuldades respiratórias até morte. Raramente se apresenta envenenamento por cobre e, quando ocorre, é causado geralmente por ingestão de soluções de nitrato de cobre. Algumas características como a do mesmo sendo cofator de algumas enzimas fazem desse metal um elemento com potencial para transportar moléculas orgânicas através do organismo, na forma de complexos metálicos.

Além do mais, como já supracitado, o estado de oxidação II do cobre é o mais estável; os compostos de Cu (II) são paramagnéticos e geralmente apresentam coloração azul ou verde, podendo existir também complexos de cor marrom ou vermelho, resultantes principalmente de bandas de transferência de carga. O Cu (II) forma um grande número de complexos com muitos tipos de ligantes. Os mesmos apresentam uma série de distorções com respeito às geometrias regulares (MONSALVE, 2013).

Os compostos de cobre são comumente utilizados para sínteses de complexos metálicos, principalmente devido à acessibilidade dos seus derivados quanto à disponibilidade dos mesmos e quanto à disponibilidade e preço. Desta forma, complexos de cobre com alguns ligantes como os aminopiridínicos têm sido

amplamente sintetizados, caracterizados e testados suas propriedades biológicas para uma série de aplicações (TIAGO, 2015).

As propriedades biológicas do cobre estimulam o desenvolvimento de compostos de coordenação contendo ligantes biologicamente ativos, pois drogas administradas na forma de complexos apresentam uma maior atividade em relação às substâncias orgânicas livres. Sendo assim, pode-se destacar a importância do uso dos metais de transição para pesquisas científicas relacionadas a farmacologia bem como sua interação de alguns ligantes aminopiridínicos (TIAGO, 2015).

Lima (2014), afirma que os metais, assim como muitas biomoléculas quando sozinhas, apresentam pouca, ou nenhuma propriedade farmacológica, estas propriedades aparecem ou são intensificadas após a formação do complexo, ocorrendo o sinergismo, ou seja, as suas propriedades são potencializadas quando se forma o complexo. Portanto, para que possa apresentar propriedades químicas, físicas e biológicas é importante escolher biomoléculas estruturalmente interessantes.

2.3 COMPLEXOS METÁLICOS E LIGANTES IMIDAZÓLICOS

Nos últimos anos, os complexos metálicos têm sido alvo de crescente interesse em Química medicinal. Um número crescente de estudos explora o potencial destes agentes para o tratamento de diversas doenças. Ao longo das últimas cinco décadas, um vasto número de complexos metálicos tem sido alvo de extensa investigação e avaliação (MARTINS, et al, 2016).

Ainda de acordo com Martins, et al (2016), os complexos dos metais de transição platina, rutênio, ouro, titânio e cobre têm sido os principais alvos de estudo. O preenchimento parcial das camadas d confere aos metais de transição as propriedades eletrônicas necessárias ao estabelecimento de compostos de coordenação representados por um centro metálico coordenado a uma matriz circundante de moléculas ou íons.

O desenho de novos compostos de coordenação tem em consideração o estado de oxidação do metal e a hidrólise intracelular dos seus grupos abandonantes, já que estes determinam a sua atividade biológica, bem como o transporte, a biodisponibilidade e a dose ótima do fármaco administrado (MARTINS, et al, 2016).

Segundo Rocha, et al (2011), as atividades exercidas por íons metálicos nos meios biológicos têm estimulado a pesquisa e o desenvolvimento de compostos

inorgânicos como agentes terapêuticos. O envolvimento destes compostos na medicina, principalmente aqueles contendo metais de transição, foi muito limitado até 1965, quando houve a clássica demonstração da atividade antitumoral do complexo denominado cisplatina.

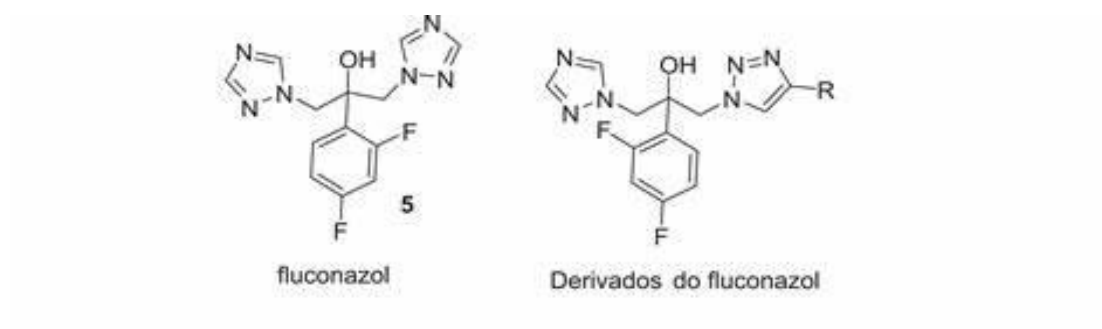
Atualmente existem muitos estudos envolvendo os complexos metálicos no combate aos microrganismos, como por exemplo, na resistência de algumas bactérias aos fármacos comercializados, como a tetraciclina. Para contornar o problema da resistência adquirida às tetraciclinas ou simplesmente obter compostos com outras propriedades farmacológicas, têm-se coordenado metais de transição a algumas moléculas. Assim, pesquisadores utilizam complexos de paládio (II), onde o íon paládio (II) está coordenado à tetraciclina (I) ou à doxiciclina (II). Em comparação com as tetraciclinas, seus correspondentes compostos de coordenação apresentaram maior atividade antibacteriana contra a linhagem resistente a bactérias (ROCHA, et al, 2011).

Outro metal importante para a adição na produção de fármacos é o Cu (II), devido ao caráter de ácido de Lewis e por ter afinidade por base de Lewis. Por outro lado, o Cu (I) também se torna um candidato bastante eficaz pelo fato de apresentar caráter de ácido de Lewis macio e possuir afinidade por bases macias. A figura 05 representa os complexos de Cu em suas formas de oxidação (I) e (II), bem como os números de coordenação e geometria (SILVA, et al, 2019).

Para o desenvolvimento de um Complexo Metálico com propriedades farmacológicas promissoras, tem-se que se pensar no Metal de transição, assim como também nas biomoléculas (ligantes) que serão coordenadas ao centro metálico, pois o sinergismo farmacológico é obtido a partir da combinação dessas duas espécies químicas.

Despaigner (2012) afirma que compostos da família dos azóis são bons agentes farmacológicos, estes possuem anéis com imidazol que quando incorporados à complexos metálicos apresentam propriedades antimicrobianas ativas. Essas estruturas são nucleotídeos naturais de boa interação com biopolímeros de organismos vivos, a capacidade de interação dos compostos imidazólicos facilitam a aplicação de suas funcionalidades principalmente como agentes antifúngicos, antibacterianos, antitumorais e entre outras atividades importantes.

Figura 06– Ligantes das famílias dos imidazóis representados em fármacos.



Fonte: Google imagens (2020).

A importância da coordenação também é remetida ao processo de sinergismo existente no grupamento metal-ligante, pois permite que os fármacos tenham suas atividades favorecidas se comparadas ao teor de atividade apenas do ligante livre (DESPAIGNER, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver candidatos a fármacos usando compostos de coordenação de cobre com ligantes 1,10-Fenantrolina e Imidazol, para atuarem como agentes antimicrobianos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar a síntese dos complexos de Cobre com os ligantes imidazólicos e aminopiridínicos do tipo *cis*-[Cu(phen)Cl₂] e *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂;
- ✓ Fazer a caracterização das estruturas dos complexos organometálicos usando a técnica do Uv-Visível (UV-VIS) e Infravermelho (IV);
- ✓ Estudar a atividade antimicrobiana dos compostos de coordenação: atividade antibacteriana utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213);
- ✓ Determinar a Concentração mínima inibitória (CIM) frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213);
- ✓ Realizar o estudo de toxicidade utilizando artemias salinas.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

A pesquisa é de caráter experimental uma vez que o pesquisador manipula diretamente as variáveis relacionadas ao objeto de estudo, buscando uma relação de causa e efeito. Segundo Rampazzo (1998), é considerado o método mais sofisticado para o teste de hipóteses. O experimento pode ser conduzido no laboratório, onde o pesquisador tem condições de provocar e reproduzir fenômenos com as condições e as variáveis controladas.

4.2 LOCAL E SUJEITO DA PESQUISA

Os procedimentos experimentais de síntese dos compostos de cobre foram realizados no Laboratório de Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), Campus Parnaíba e no Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAR), Campus Ministro Reis Velloso.

A caracterização dos complexos foram feitas a partir das técnicas de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) e Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) realizadas no BIOTEC na UFDPAR e Universidade Federal do Piauí – Campus Teresina, respectivamente. Os ensaios de atividade antibacteriana ocorreram no BIOTEC e no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismos e Plantas (BIOMIC). Os ensaios de citotoxicidade ocorreram no laboratório de pesquisa do Instituto Federal do Piauí – Campus Parnaíba.

4.3 REAGENTES

Na tabela 01 (de autoria própria, 2021) consta os reagentes, o peso molecular (PM) e a fórmula química dos reagentes utilizados na síntese dos complexos de cobre.

Tabela 01– Reagentes, fórmula molecular e PM

REAGENTES	FÓRMULA	PM
Cloreto de cobre	CuCl_2	170,48 g/mol
1,10 fenantrolina	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$	198,22 g/mol
Imidazol	$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$	68,08 g/mol
Álcool etílico	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	46,07 g/mol
Hexafluorofosfato de amônia	NH_4PF_6	163,00 g/mol

4.4 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS

Na tabela 02 (de autoria própria, 2021) consta as vidrarias e materiais utilizados nas sínteses.

Tabela 02– Vidrarias e materiais

VIDRARIAS	MATERIAIS
Balão volumétrico	Papel alumínio
Kitassato	Termômetro
Condensador	Bacia de Alumínio
Béquer (25 ml)	Eppendorf
	Garra

4.5 SÍNTESE DOS COMPLEXOS METÁLICOS

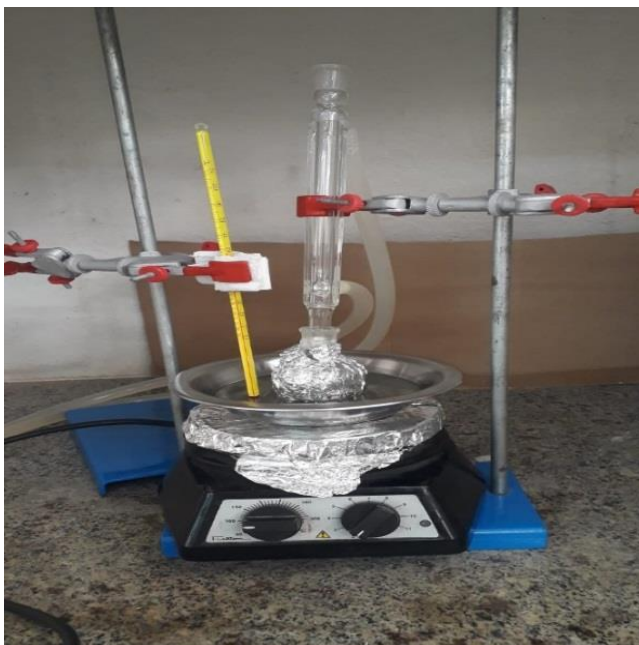
Para a realização da síntese dos complexos de cobre, fez-se necessário montar todo o sistema reacional dentro da capela de exaustão no laboratório químico.

O complexo $\text{cis-[CuCl}_2(\text{phen})]$ foi sintetizado a partir do Cloreto de Cobre (CuCl_2) e complexos iônicos que são do tipo $\text{cis-[Cu(Imdz)}_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$ de forma que ocorreu a troca do ligante cloreto Cl^- pelos ligantes imidazólicos.

A metodologia da síntese seguiu o processo padrão de síntese de complexos metálicos de cobre, onde o álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) e a água destilada foram utilizados como solventes em sistema com aquecimento brando de 70°C e atmosfera de nitrogênio.

No balão volumétrico adicionou-se 50 mg de precursor, 4ml de álcool etílico e 1 mol de fenantrolina. Fechou-se o sistema, cobriu-se o mesmo com papel alumínio e o mesmo ficou sob aquecimento (70°C), refluxo, com agitação constante por 2 horas. A Figura 07 exibe o sistema utilizado no experimento.

Figura 07– Sistema utilizado para a realização da síntese



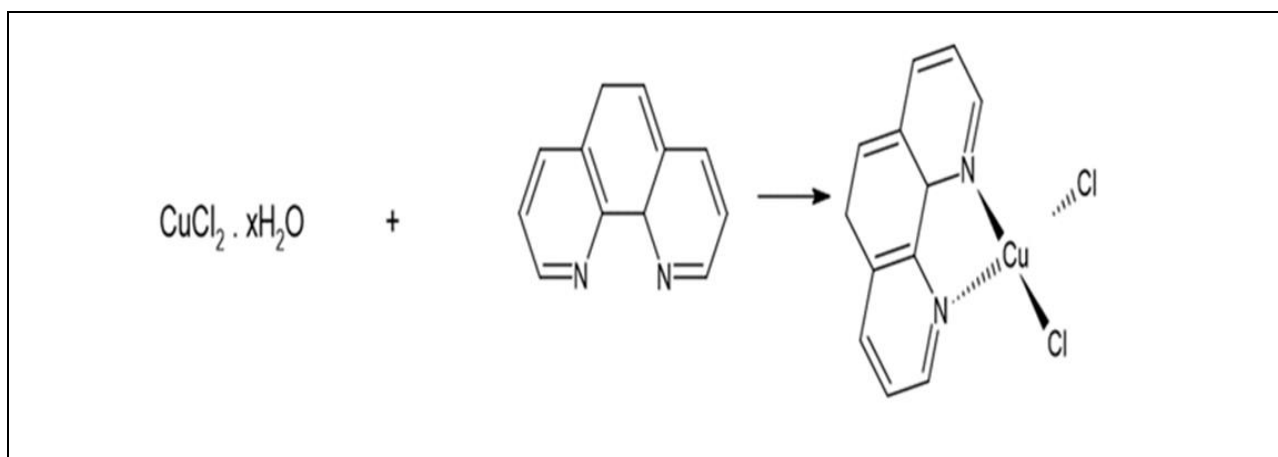
Fonte: Autoria própria (2019).

Após 2 horas de síntese, retirou-se o complexo formado e colocou-se na geladeira por 24 horas.

Ao retornar no dia seguinte, fez-se a filtração a vácuo e lavagem do complexo com água e etanol gelada. Posteriormente foram secos a vácuo e estocado em dessecador, obtendo-se o complexo diclorofenantrolinacobre(II) e finalmente foi realizado o cálculo do rendimento para o complexo obtido resultando em 54,2%.

A figura 08 no quadro abaixo, mostra a reação de forma simplificada da equação em debate.

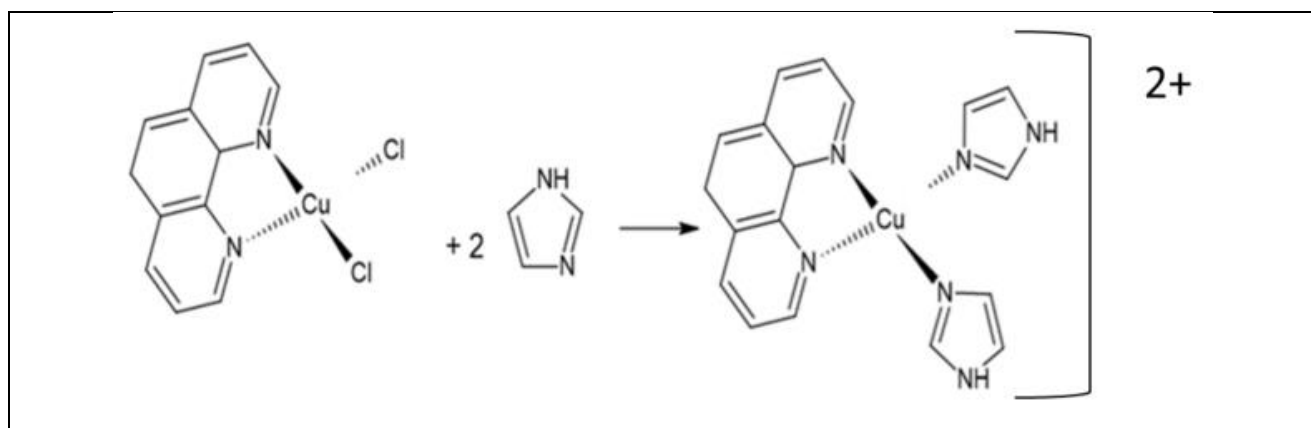
Figura 08 – Equação do primeiro complexo formado



Fonte: Autoria própria (2021).

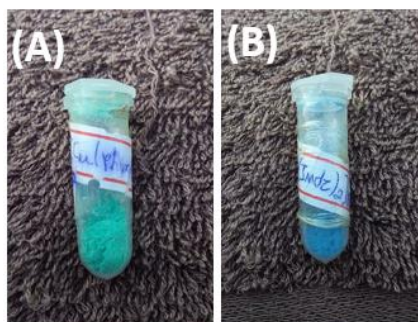
Posteriormente, pegou-se o complexo formado e adicionou-se ao mesmo 2 mols de imidazol, obtendo-se o complexo final *cis*- diimidazolfenantrolinacobre(II). Finalmente foi realizado o cálculo do rendimento para o complexo obtido resultando em 61 %. A figura 09 (de autoria própria, 2021) no quadro abaixo exhibe a equação.

Figura 09– Equação do complexo final



As figuras 10 A e 10 B (de autoria própria, 2019) mostram os complexos com fenantrolina (phen) e imidazol (imdz) obtidos.

Figura 10: Complexos de Cobre: (A) Complexo Precursor; (B) Complexo final.



4.6 ESPECTROFOTÔMETRO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL

A caracterização dos complexos e estudo dos solventes foi realizado utilizando a técnica espectroscópica de Uv-Visível (UV-VIS), como mostra a figura 11 onde foi possível obter os espectros e a comprovação da ligação entre o metal e os ligantes.

Os espectros de absorbância na região do UV-vis foram obtidos através do uso do espectrofotômetro Uv – 1800 SHIMADZU CORP. 02035, na região compreendida entre 770 nm para a região de menor comprimento de onda, utilizando-se assim soluções de acetonitrila e dimetilformamida em concentração de $1,66 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 11– Aparelho utilizado para o UV-vis



Fonte: autoria própria (2019).

Para isso, fez-se os cálculos necessários para a realização das diluições e posteriormente os testes.

4.7 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (IV)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos em pastilha de KBr, utilizando-se um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT, modelo MB – 102 na região compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} .

4.8 ATIVIDADE CITOTÓXICA FRENTE À ARTEMIA SALINA

O ensaio de toxicidade frente à *A. salina* foi realizado conforme McLaughlin et al. (1998) com modificações para estudos com complexos metálicos de cobre. Foram preparadas soluções estoque em metanol na concentração de 100 micromolar por mL.

Após completa evaporação do metanol à temperatura ambiente, foram adicionadas em cada tubo 0,1 mL de DMSO e 5mL de água do mar para solubilização das amostras. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram transferidas 10 larvas de *A. salina* e o volume final (10 mL) foi completado com água do mar.

As larvas ficaram expostas às soluções das amostras por 24 horas. Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração da amostra e controle negativo constituído por 0,1 mL de DMSO, 10 mL de água do mar e as larvas.

Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem das larvas vivas e mortas em placas de Petri, sendo consideradas vivas todas aquelas que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observadas próximas a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle não apresentou mortalidade.

4.9 TESTE ANTIMICROBIANO

O teste antimicrobiano foi realizado pelo método de microdiluição em caldo, conforme recomendação do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), para determinar a concentração mínima inibitória (CIM). O teste foi realizado em triplicata dentro de uma cabine de segurança biológica nível II usando uma microplaca de 96 poços, como mostra a figura 12.

As cepas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) foram previamente semeadas em placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton e incubadas em incubadora bacteriológica por 24h a uma temperatura de 35,0 $\pm$ 2°C em condições aeróbicas.

Figura 12– Microplaca de 96 poços fundo chato



Fonte: autoria própria (2021).

Para a determinação da CIM as bactérias foram expostas a uma diluição em série da razão 2 dos materiais: (CuCl_2) , $\text{cis-}[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$ e $\text{cis-}[\text{Cu}(\text{Imdz})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$ em concentrações que variaram de 1,25 mg/mL a 0,039mg/mL sob condições aeróbicas e agitação constante. Foram realizados controles de esterilidade do meio e do material, bem como controle do crescimento bacteriano.

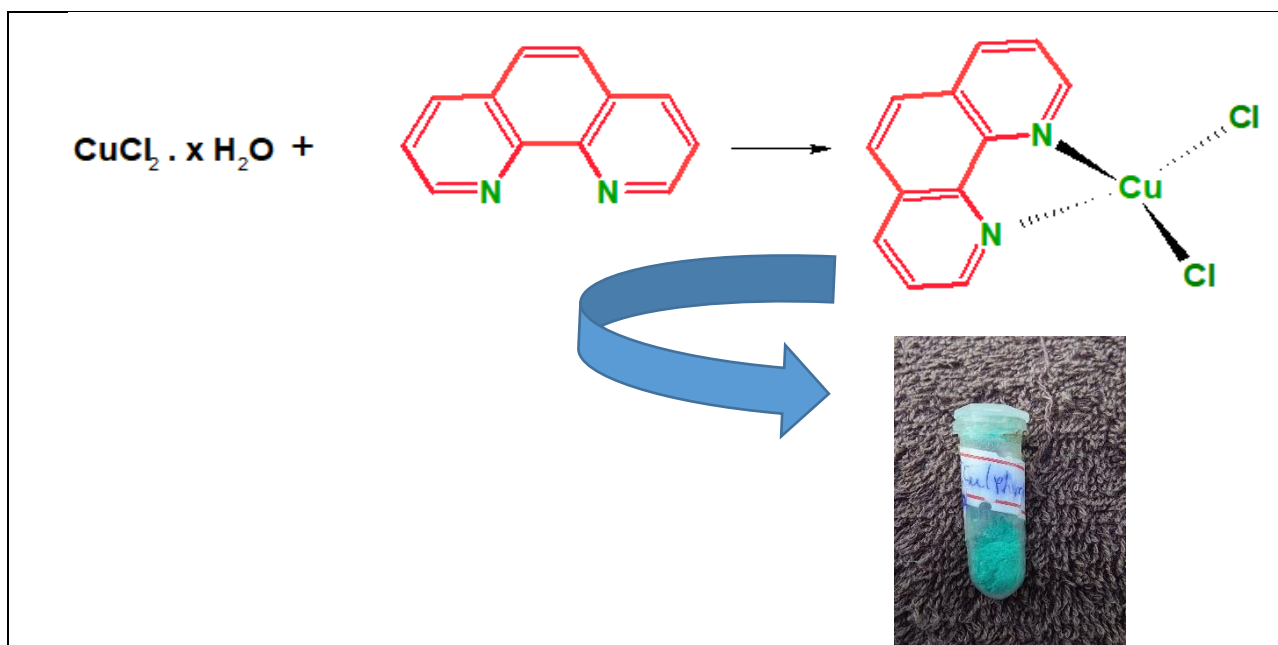
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE DOS COMPLEXOS METÁLICOS

Para a realização das sínteses, foi essencial fazer a montagem do sistema reacional como já mostrado na figura 07 no item 4.5 da metodologia.

Primeiramente realizou-se a síntese do complexo precursor *cis*-[CuCl₂(phen)] com o cloreto de cobre (CuCl₂). A imagem ilustrativa abaixo (de autoria própria, 2021), mostra a equação obtida e o pó do complexo formado.

Figura 13– complexo precursor com fenantrolina



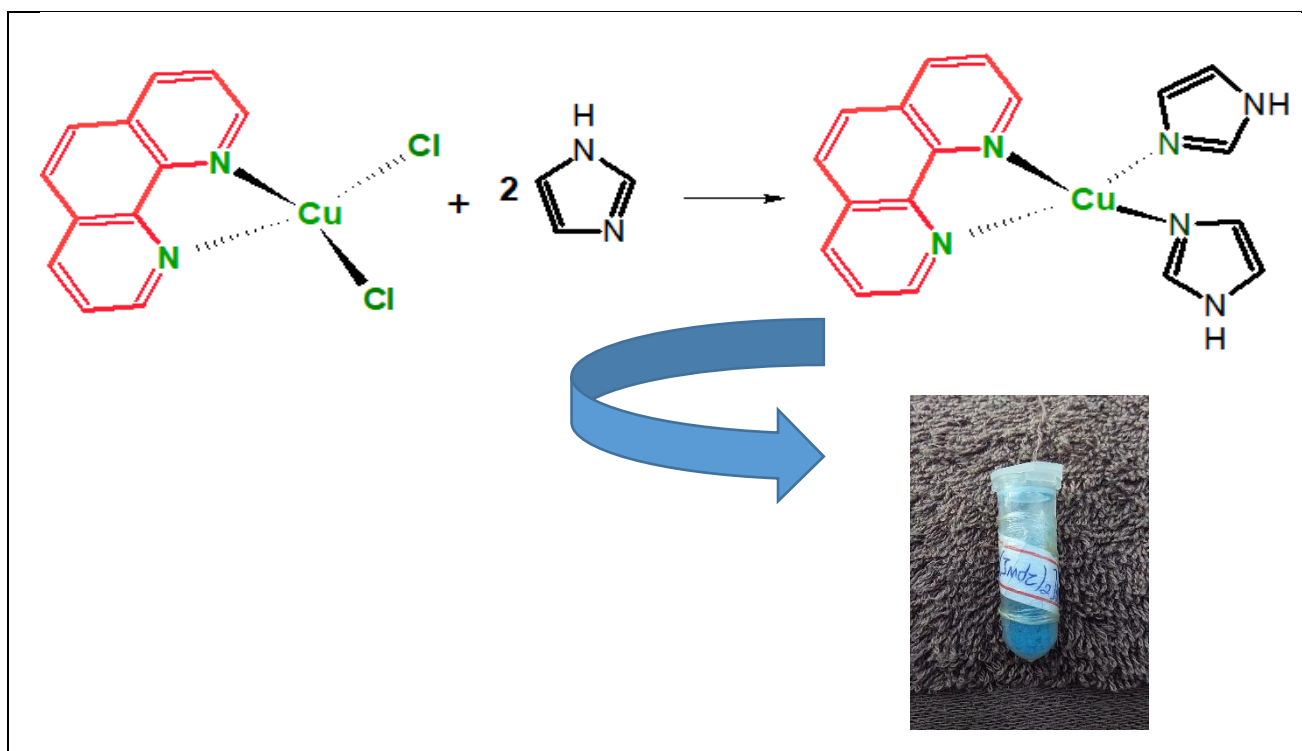
Segundo Paixão (2017), os sais metálicos de Cu²⁺ são extremamente versáteis, apresentando elevada reatividade, alta disponibilidade, baixo custo e alta solubilidade, além de serem manipulados de maneira fácil e eficaz.

O cloreto de cobre e o complexo obtido formaram uma coloração verde claro. De acordo com Chandrashekar et al (2018), o cloreto de cobre (I) é um composto inorgânico constituído por (Cu) e cloro (Cl). Sua fórmula química é CuCl₂. O cobre neste composto tem uma valência de +1 e o cloro – 1. O mesmo é um sólido cristalino branco que, quando exposto ao ar por muito tempo, adquire uma coloração esverdeada devido à oxidação do cobre (I) ao cobre (II).

O cloreto de cobre se comporta como ácido de Lewis, necessitando de elétrons de outros compostos que são bases de Lewis, com os quais são formados complexos ou adutos estáveis. Possui propriedades ópticas que podem ser usadas em semicondutores emissores de luz (CHANDRASHEKHAR, et al, 2018).

Logo após a obtenção do precursor, realizou-se o processo reacional para obtenção do complexo final com imidazol, ocorrendo assim a troca do ligante cloreto (Cl^-) pelos ligantes imidazólicos. A figura 14 (de autoria própria, 2021) mostra de forma ilustrativa a equação em debate formada e o pó do complexo obtido.

Figura 14– complexo final com imidazol



O complexo final apresentou uma coloração azul clara. Esse fenômeno aconteceu devido às transições de transferência de carga do metal para o ligante. Uma outra explicação para este resultado é que houve um deslocamento da banda MLCT do complexo precursor para a região de menor comprimento de onda para o complexo com imidazol. Esse fenômeno será detalhado ao realizar as discussões a respeito da caracterização dos complexos através da técnica espectroscópica do UV-visível.

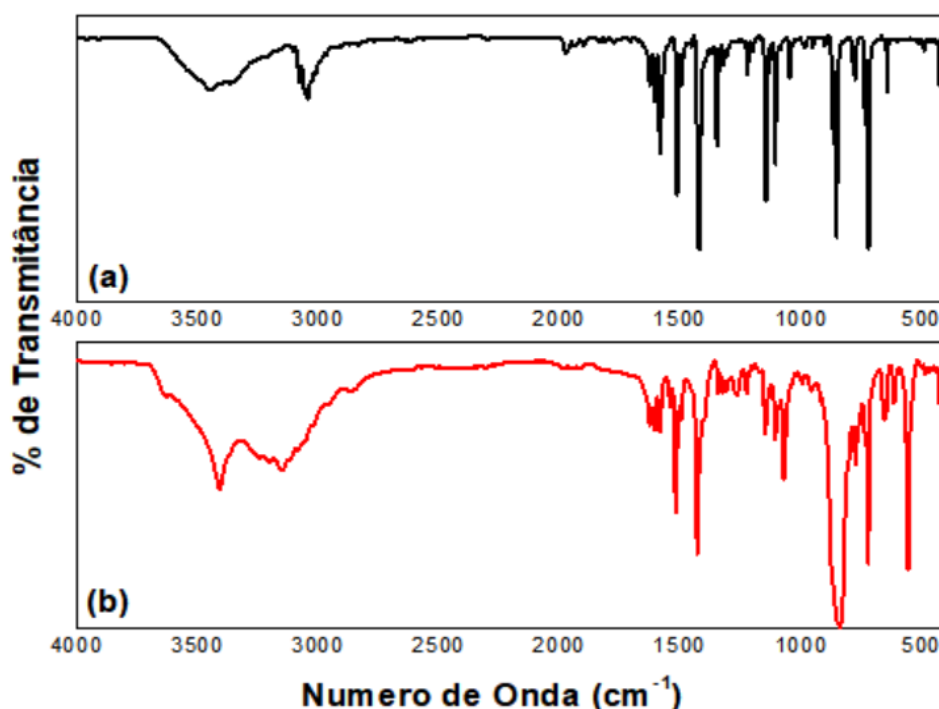
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS METÁLICOS

5.2. 1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Com base nas frequências vibracionais a técnica de espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi utilizada na caracterização dos complexos metálicos, onde foi utilizada para identificar as unidades estruturais das moléculas.

A Figura 15 exibe os espectros de infravermelho obtidos em pastilha de KBr (brometo de potássio) para os complexos *cis*-[CuCl₂(phen)] e *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂.

Figura 15– Espectro de infravermelho em pastilha de KBr para os complexos: (a) *cis*-[CuCl₂(phen)] e (b) *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ da região de 4000cm⁻¹ a 400 cm⁻¹



Fonte: autoria própria (2021).

Analisando os espectros de infravermelho para os complexos *cis*-[CuCl₂(phen)] e *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ foram verificadas bandas de estiramentos ν C=C (1600-1400 cm⁻¹), δ C-H (800-600 cm⁻¹), ν C-N (1200-1000 cm⁻¹) e ν Cu-N ($\approx$ 429 cm⁻¹) referentes aos ligantes fenantrolina e imidazol. Verificou-se que no complexo final *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ essas bandas são mais intensas, isso se deve à coordenação do ligante imidazólico ao centro metálico, uma vez que existem duas moléculas de

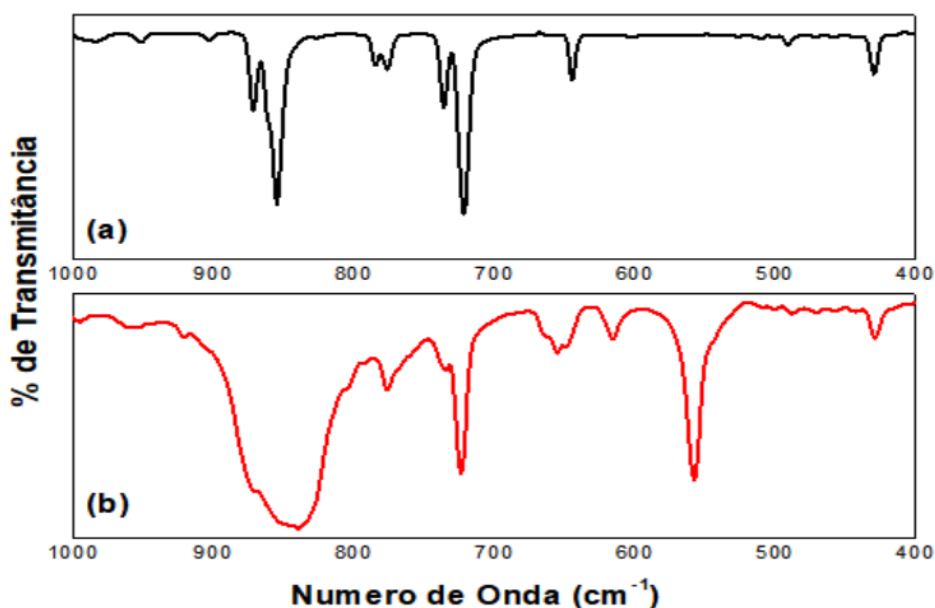
imidazol, intensificando os sinais de $\nu\text{C-H}$, $\nu\text{C=C}$, $\nu\text{C=N}$, $\delta\text{C-H}$, $\nu\text{C-N}$ e $\nu\text{Cu-N}$ (FERLE, 2013).

Em ambos complexos foi verificada uma banda larga na região de 3500-3100 cm^{-1} que é referente ao estiramento $\nu\text{O-H}$ de H_2O , proveniente de umidade presente nas amostras.

Verificou-se no complexo final, bandas bastante intensas em 837 cm^{-1} e 550 cm^{-1} , referentes ao contra-íon PF_6^- e $\delta\text{C-H}$, respectivamente. Verificou-se também uma pequena banda 3600 cm^{-1} referente ao estiramento $\nu\text{N-H}$ do ligante imidazol.

As bandas de deformação e estiramentos da região (1000 a 400 cm^{-1}) dos grupamentos pertencentes aos complexos podem ser mais bem visualizadas na Figura 16 (a) e (b).

Figura 16– Espectro de infravermelho em pastilha de KBr para os complexos: (a) *cis*- $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$ e (b) *cis*- $[\text{Cu}(\text{Imdz})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$ da região de 1000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .



Fonte: autoria própria (2021).

A Tabela 03 (de autoria própria, 2021) exhibe os principais modos vibracionais encontrados para os complexos *cis*- $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$ e *cis*- $[\text{Cu}(\text{Imdz})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$ e as suas correspondentes atribuições.

Tabela 03 - Modos vibracionais encontrados para os complexos *cis*-[CuCl₂(phen)] e *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ e as suas atribuições.

Modos Vibracionais (cm ⁻¹)	Atribuição
≈3600	νN-H
3500-3100	νO-H
1600-1400	νC=C
1604-1631	δH-N
1200-1000	νN-C
≈837	νP-F
800-600	νC-H
≈490	νCu-N
≈550	δC-H

A partir da análise dos espectros verifica-se que de fato o complexo final *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ foi obtido. Na próxima seção serão apresentados e discutidos os resultados de espectroscopia na região do UV-Vis que corroboram com os resultados do Infravermelho sobre a obtenção dos complexos.

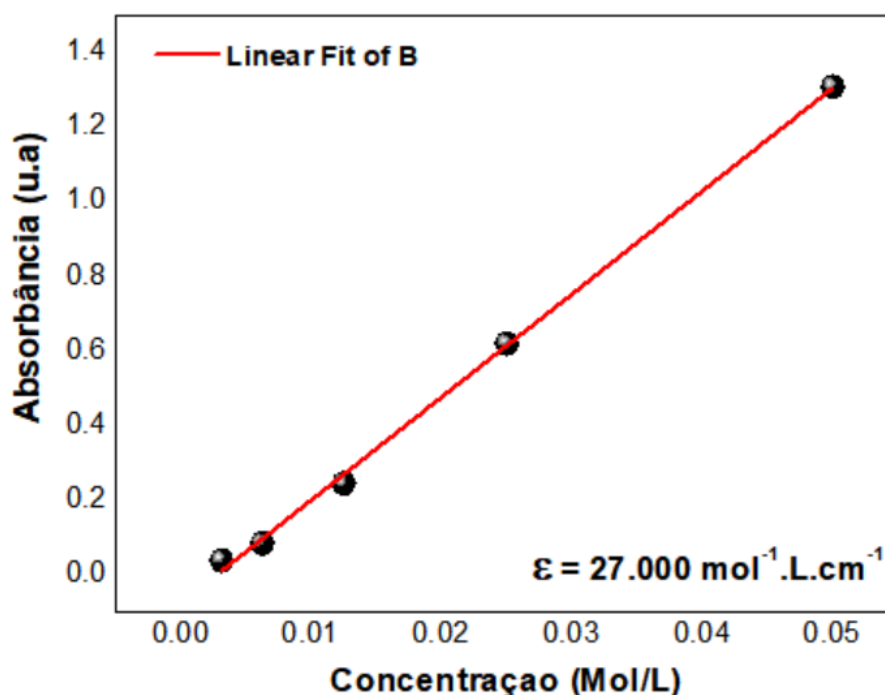
5.2. 2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL

A partir da técnica de espectroscopia na região do ultravioleta – visível foi possível encontrar as bandas referentes às transferências de carga do metal para o ligante (MLCT), a banda centrada no metal e as bandas referentes às transições eletrônicas dos ligantes.

A técnica de espectroscopia UV-vis se refere à análise da absorção de luz por uma amostra (absorção eletrônica). Luz UV e/ou visível numa faixa de comprimentos de ondas é passada pela amostra, enquanto a quantidade de luz absorvida pela amostra é medida por um espectrofotômetro. Simbolizando a intensidade da luz antes de passar pela amostra por I_0 e a intensidade da luz depois de passar pela amostra por I . Assim, a absorbância é determinada como função de uma faixa de comprimento de onda (CASANOVA, 2010).

Na Figura 17 pode ser visualizado o gráfico de concentração *versus* Intensidade de absorbância, onde foi feito um cálculo de regressão linear a fim de encontrar o valor de absortividade molar para o complexo. O r^2 ajuste linear encontrado foi de 0,99811, indicando um bom conjunto de dados.

Figura 17 – Regressão linear para os dados de absorbância *versus* concentração do complexo *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ em 720 nm.



Fonte: autoria própria (2021).

Para o complexo de cobre *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ foi obtido um valor de ϵ (absortividade molar) bem intenso $27.000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, evidenciando o quanto é permitida e favorável acontecer às transições de transferência de carga do metal para o ligante (MLTC).

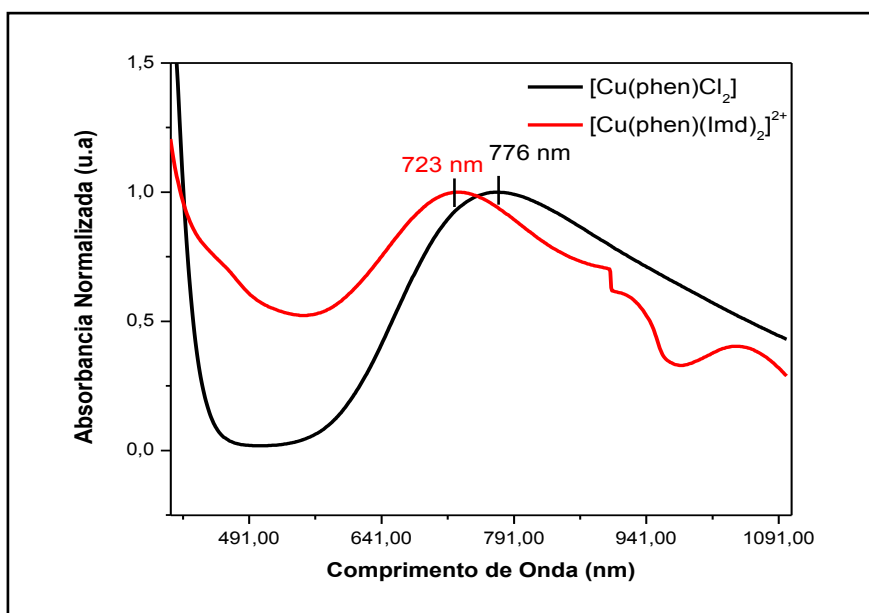
Dantas e colaboradores (2004), determinaram a absortividade molar para complexos de cobre encontrando valores de $6,25 \times 10^{-3} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, $1,22 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ coordenados com ligantes do tipo quinolina.

Oliveira (2018), variando o tipo de ligante coordenados ao metal cobre (II) sintetizou uma série de complexos, onde determinou a absortividade molar, encontrando valores superiores a $10.000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

A partir dos espectros de absorção observam-se bandas bastante definidas e intensas na região do visível para os complexos, as quais são atribuídas às transições de transferência de carga do metal para o ligante (MLCT (Cu (II)) $\rightarrow$ phen (π^*)).

Verifica-se um deslocamento da banda MLCT do complexo precursor de 770 nm para região de menor comprimento de onda para o complexo obtido com imidazol, como pode ser visualizado na Figura 18.

Figura 18– Bandas referentes às transferências de carga MLCT



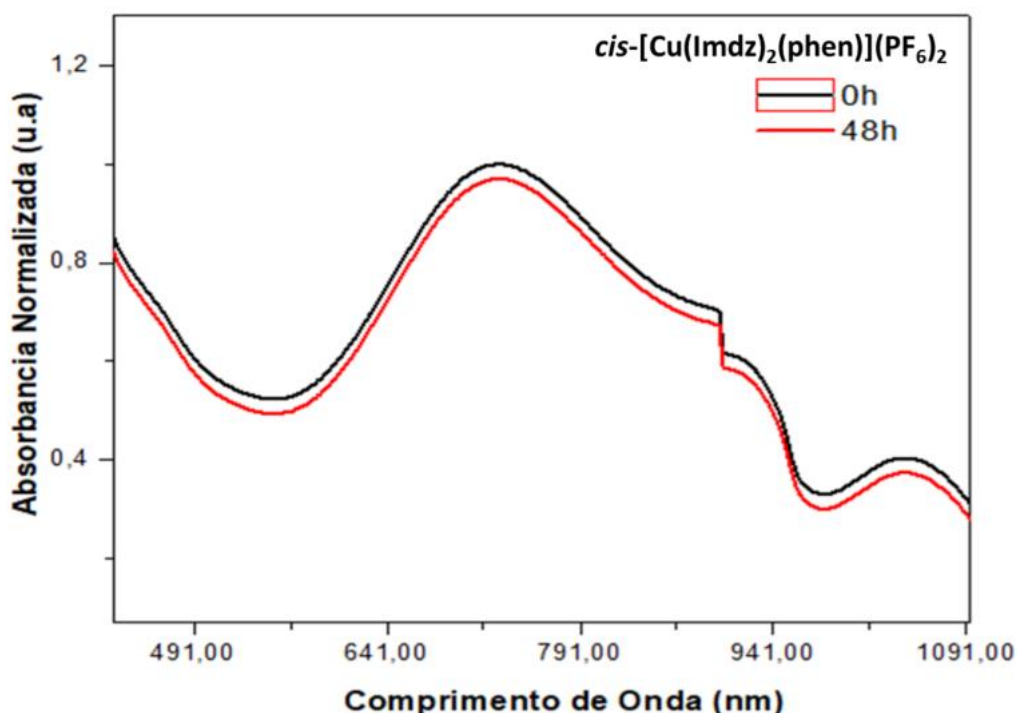
Fonte: Autoria própria, 2019.

Esse deslocamento é resultado da estabilidade eletrônica que esses complexos obtiveram, devido às substituições dos ligantes cloretos, pelos ligantes imidazólicos, já que este ligante além de ser receptor σ , é receptor π , diferente dos cloretos, que são doadores π .

A substituição dos cloretos resulta numa maior estabilização do centro metálico (estabilização da energia dos orbitais t_{2g}), deslocando a banda MLCT para menor comprimento de onda no espectro, que é referente ao de maior energia.

Outro importante estudo realizado foi o de estabilidade através da espectroscopia de Uv-Vis (figura 19).

Figura 19– Estabilidade através da espectroscopia de Uv-Vis



Fonte: Autoria própria, 2019.

Analisando o espectro verifica-se que o complexo apresentou estabilidade, uma vez que seu espectro não sofreu alteração, após 48h após preparo de solução, indicando que não ocorreu troca dos seus ligantes com o solvente.

A estabilidade é uma importante característica que um candidato a fármaco deve apresentar, já que no meio biológico a sua instabilidade poderia resultar numa diminuição das suas propriedades farmacológicas.

A avaliação da estabilidade química é um ensaio antigo, utilizado a mais de 100 anos e possui um papel crítico em selecionar os melhores candidatos dentre inúmeras moléculas produzidas, uma vez que a instabilidade reduz a quantidade de fármacos entregue ao alvo terapêutico, além de que os produtos formados podem causar efeitos tóxicos. Os fatores que determinam a estabilidade de um composto incluem fatores intrínsecos, como a estrutura molecular e fatores ambientais, como temperatura, pH, força iônica, luz, oxigênio, dentre outros. (YOSHIOKA, 2002).

Para os complexos em estudo, a estabilidade se mostrou eficaz uma vez que a variação do pH da corrente sanguínea, organismo e estômago precisam “interagir” com fármacos que não prejudiquem a biodisponibilidade oral. (KERNS, 2007).

5.3 ATIVIDADE CITOTÓXICA FRENTE À ARTEMIA SALINA

No intuito de verificar a toxicidade do complexo *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ realizou-se o ensaio de toxicidade, utilizando larvas de artemia salina. A A. Salina é um microcrustáceo de água salgada muito sensível a substâncias tóxicas. Este teste é uma maneira simples para a avaliação da toxicidade (SCHNEIDER et al., 2015).

O quadro 01 apresenta os resultados do teste de toxicidade aguda com complexo de cobre com imidazol no tempo de exposição de 24h.

Quadro 01 – Controle de artemias vivas e mortas

TUBOS DE ENSAIO- CONCENTRAÇÃO (μM)	A. VIVAS	A. MORTAS
1/10	10	0
2/10	10	0
3/10	10	0
1/20	10	0
2/20	09	01
3/20	08	02
1/40	09	01
2/40	10	0
3/40	07	03
1/60	09	01
2/60	10	03
3/60	09	01
1/80	0	10
2/80	0	10
3/80	0	10
1/100	0	10
2/100	0	10
3/100	0	10

Para este ensaio, determinou-se a faixa de concentração a ser testada, buscando sempre a menor concentração em que se observasse 0% de mortalidade e

a maior concentração em que se deflagrasse 100% de mortalidade. As demais concentrações foram distribuídas dentro desse limite (Veiga et al, 1989).

Pode-se observar que as concentrações de 80 micromolar por mL e 100 micromolar por mL causou a morte de todos os indivíduos já nas primeiras 24h. Esse resultado mostra que essas foram as maiores concentrações testadas, o que confirma a não toxicidade do complexo de acordo com a literatura, uma vez que se nas concentrações mais baixas houvessem 100% de morte da população, poderia considerar-se tóxico.

Nas concentrações de 10 micromolar por mL, observou-se que todas as artemias se encontravam vivas. Segundo Veiga et al (1998), considera-se que o material não é tóxico, uma vez que se observou 100% da população de artemias vivas na concentração mais baixa.

Nos testes de concentração 20, verificou-se uma pequena variação no número de morte da população em teste, decaindo de 1 artemia morta por tubo de ensaio. Esse resultado mostra que apesar da concentração 20 ser muito próxima a concentração mais baixa testada, o material não apresenta 100% de toxicidade devido ao baixo número de artemias mortas.

Nos testes de concentração 40 e 60, observou-se uma variação de mortalidade um pouco maior do que nos dois primeiros testes. Isso se deu devido as concentrações se aproximarem das maiores concentrações testadas (uma vez que apresentaram 100% de mortalidade).

Após essa verificação, fez-se o controle negativo (teste do branco) e observou-se após 24h que as mesmas apresentavam movimentos, ou seja, não morreram à exposição sem o complexo de cobre com imidazol, confirmando-se que na concentração testada não apresentava toxicidade.

5.4 TESTE ANTIMICROBIANO

Após as sínteses, caracterização dos complexos e atividade citotóxica frente à artemia salina, realizou-se os testes microbiológicos. Os complexos de cobre foram testados contra a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213).

A figura 20 mostra a cepa bacteriana investigada.

Figura 20– Bactéria *Staphylococcus aureus*

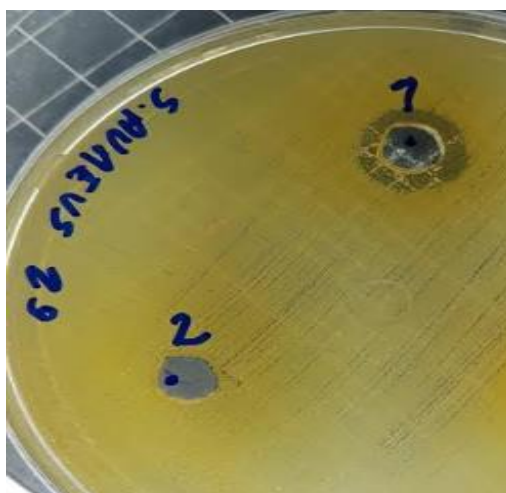


Fonte: Autoria própria, 2021.

Após 24h de incubação, observou-se que a mesma apresentou formatos de bola e coloração amarelo dourado. Essa característica se deu após o cultivo em placas de Petri e incubação, obtendo-se assim essas colônias/características. Esse fenômeno pode ser explicado devido a temperatura utilizada de $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; além do mais, as condições aeróbicas forneceram para esse resultado qualitativo.

Ao realizar o teste para verificar a atividade microbiológica do complexo frente à bactéria em estudo, percebeu-se que o sal do metal e complexo final apresentaram diferentes atividades frente à bactéria como mostra a figura 21.

Figura 21– Resultado dos testes antimicrobianos.



Fonte: Autoria própria, 2021.

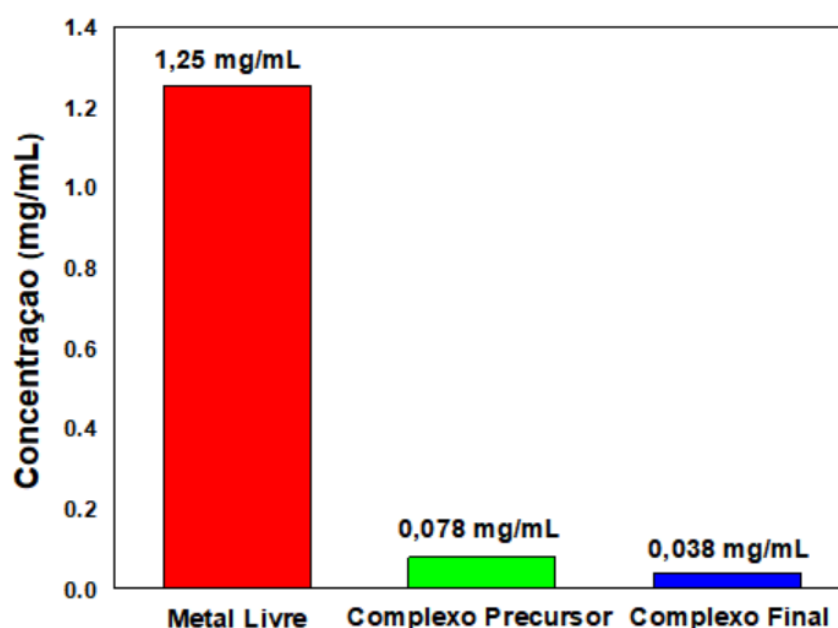
Essa análise pode ser feita através do halo de inibição. Com a aplicação do ligante livre (2) não verificou-se atividade de inibição frente a bactéria, uma vez que não apresentou halo de inibição. Por outro lado, o complexo final *cis*-[Cu(Imdz)₂(phen)](PF₆)₂ (1) apresentou muita atividade frente a bactéria *S. aureus*, apresentando um halo de inibição significativa.

Essa diferença nos resultados se deve ao sinergismo do complexo final, apresentada com a coordenação dos ligantes ao metal cobre, fazendo com que o complexo final apresente propriedades que os ligantes e metal sozinhos não apresentariam.

Segundo Bento (2021), o estudo da ação antimicrobiana frente aos complexos metálicos tem como importância avaliar novos compostos para a inibição de microrganismos patogênicos resistentes aos antibióticos atuais. Complexos de cobre são de grande interesse em química bioinorgânica, química inorgânica medicinal, bem como pelas suas possíveis atividades luminescentes e catalíticas.

Após o ensaio para a verificação da atividade microbiológica do complexo, realizou-se a verificação do CIM (concentração inibitória mínima). O CIM é a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano visível. Os resultados do teste podem ser visualizados na Figura 22:

Figura 22– Teste de Concentração mínima Inibitória.



Fonte: Autoria própria, 2021.

A CIM foi considerada como moderada para os complexos CuCl_2 e *cis*- $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$, e como boa para o complexo *cis*- $[\text{Cu}(\text{Imdz})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$. No complexo de cloreto de cobre, obteve-se uma concentração de 1,25mg/mL. Esse resultado foi considerado como a maior concentração testada, inibindo pouco a bactéria. Esse fato pode ser explicado pela composição molecular do sal, uma vez que o metal nessas condições é livre, obtendo-se resultados baixos.

No complexo *cis*- $[\text{CuCl}_2(\text{phen})]$, obteve-se uma concentração de 0,078mg/mL. Como já mencionado, a mesma é considerada como moderada. Esse fenômeno se deu devido aos ligantes coordenados ao metal, ocasionando-se assim uma concentração menor do que o teste 1.

Para o complexo final *cis*- $[\text{Cu}(\text{Imdz})_2(\text{phen})](\text{PF}_6)_2$ observou-se que o CIM encontrado foi 0,038mg/ML. Para esse teste, o complexo final inibiu de forma significativa o crescimento bacteriano em baixa concentração. Esse resultado se deu devido aos ligantes coordenados ao metal em estudo (sinergismo) e a estabilidade eletrônica.

Os compostos inibiram o crescimento das bactérias gram-positivas, o que indica um amplo espectro de atividade e abre perspectivas de que os mesmos possam ser utilizados como futuros fármacos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos e das análises realizadas ao longo da pesquisa concluiu-se que: o complexo final com imidazol apresentou uma coloração azul clara devido às transições de transferência de carga do metal para o ligante, além de haver o deslocamento da banda MLCT do complexo precursor para a região de menor comprimento de onda para o complexo *cis*-[Cu(lmdz)₂(phen)](PF₆)₂.

Na espectroscopia na região do infravermelho constatou-se que o complexo final apresentou bandas bastante intensas, largas e bem definidas assim como na técnica do UV-Visível, confirmando a substituição dos cloretos, resultando na estabilidade eletrônica. Quanto ao estudo microbiológico, concluiu-se que o complexo final apresentou atividade significativa frente a bactéria *staphylococcus aureus*, apresentando uma CMI de 0,038 mg/mL.

No teste citotóxico, observou-se que as artemias apresentaram 100% de mortalidade nas concentrações de 80 e 100 micromolar por mL, considerando-se assim uma solução tóxica para o teste; por outro lado, na concentração 10 verificou-se que 100% da população permanecia viva após 24h de observação, obtendo-se como resultado a não toxicidade nessa concentração.

Diante do exposto é necessário novas pesquisas e aprofundamento sobre esse tema, visto que a utilização de fármacos de complexos metálicos de cobre deve ser inserida no mercado pelas suas contribuições e vantagens no organismo humano frente aos microrganismos.

REFERÊNCIAS

ABDEL, et al, **uma revisão dos papéis bioquímicos, toxicidade e interações de zinco, cobre II**. Cobre e toxicidade, São Paulo, 1990.

BARBOSA, A. **Microrganismos associados às doenças transmitidas por alimentos (DTA`S), IMPACTOS DA SAÚDE DO MANIPULADOR DE ALIMENTOS**: Revisão de literatura. 11º. Ed, 2019.

BARRETO, M; et al. **Sucessos e fracassos no controle de doenças infecciosas no Brasil: social e contexto ambiental, políticas, intervenções e necessidades de pesquisa**. São Paulo, 2011.

BENTO P. Cabral Júnior. **Avaliação das atividades antimicrobianas em complexos metálicos**. GBBTEC/UEMS Rua Emílio Mascoli, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Guia de vigilância epidemiológica, 7ª ed. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Boletim epidemiológico – hanseníase. Brasília, 2013.

CASANOVA, R.C.M, Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis. Instituto de Química de São Carlos; São Paulo, 2010.

CARVALHO, G.M. **Estudo complementar de um complexo de coordenação de cobre e avaliação da interação com DNA humano in silico**, 2018. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação em Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-Campos dos Goytacazes-RJ.

CARVALHO, M.T, et al; **Índice de vulnerabilidade à covid-19: uma aplicação para a cidade de Fortaleza (CE)**, Brasil. Departamento de engenharia hidráulica e ambiental, Universidade Federal do Ceará – Fortaleza (CE), Brasil, 2020.

CASTRO, A.C. de. **Síntese, caracterização e atividade antimicrobiana de imino-complexos de paládio (II)**. 2014. 86f. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal de Alfenas, 2014.

CHANDRASHEKHAR, VC et al. Avanços recentes na síntese direta de compostos organometálicos e de coordenação. Na síntese direta dos complexos metálicos, 2018.

CLSI. M100 – S25 Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty fifth informational supplement, 2015.

DANTAS, F. A, “Avaliação da 2,2'- biquinolina na separação, preconcentração e determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular em solução e em fase sólida”. Salvador, Janeiro, 2004.

DEMAIN, A.L.; Sanchez, S.; J. Antibiot. 2009.

DESPAIGNE, A. A. R. **Estudo do perfil farmacológico de novos complexos metálicos de hidrazonas derivadas de piridina e imidazóis**. 2012. 221f. Tese de Doutorado - Instituto de Ciências exatas departamento de Química – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2012.

DONICI, L.C, et al; **Métodos sintéticos para preparação de 2,2' Bipiridinas substituídas**. Química Nova, julho, 2002.

FERLE, A. Síntese, caracterização estrutural e propriedades ópticas de complexos de ouro (I) baseados em ligantes derivados de núcleos pirazolínicos; Dourados, MS, Brasil, 2013.

GRUBER, A. **Covid-19: o que se sabe sobre a origem da doença**. São Paulo, 2020.

HAAS, H.L.; SERGEEVA, O.A.; SELBACH, O. “**Histamine in the Nervous System**” Physiol. Rev., 88, 1183 – 1241, 2008.

KERNS, A.H.; DI, L. Chemical Stability. In: Taylor, J.B.; TRIGGLE, D.J. Comprehensive medicinal chemistry II. New York, NY: Elsevier, 2007.

LIMA, M. V. S. **Complexos de Metais de Transição como precursores de moléculas bioativas: Aplicações no tratamento da doença de Alzheimer**. 2014. 120f. Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, São Carlos, 2014.

LIMA, P.F.M, **Staphylococcus aureus e as infecções hospitalares – Revisão de literatura**. Rua João Patrício Araújo, 179, Veneza, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil, 2014.

LUNA, EJA e SILVA, JR, JB. **Doenças transmissíveis, endemias, epidemias e pandemias**. Fundação Oswaldo Cruz. A saúde no Brasil em 2030 – Prospecção e estratégica do sistema de saúde brasileiro: população e perfil sanitário (online). Rio de Janeiro: Fiocruz/ Ipea/ ministério da saúde/ secretaria de assuntos estratégicos da presidência da república, 2013. Vol. 2.

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MARTINS, S, A, et al; Metabolomica e complexos metálicos: aliados no combate ao cancro? São Paulo, janeiro, 2016.

MCLAUGHLIN, J.L. et al. The use of biological assaysto evaluate botanicals. Drugs Information Journal, V.32, p. 513-24, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, secretaria de vigilância em saúde departamento de vigilância epidemiológica. Edição-2020, disponível em:

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos. Pdf, acesso em 02 de maio de 2021 às 18:30 h.

MONSALVE, M.S; **Síntese e caracterização de compostos de coordenação mistas de cobre com potencial atividade anti-*mycobacterium tuberculosis***. São Carlos, 2013.

NGUTA, J.M. et al. Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodiversity using Brine Shrimp, *Artemia Salina* L. (artemiidae). The open conference procudings journal, v.3, p.30-34, 2012. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/268367078>. Acesso em: 10/01/22

NISHAMINY, K. **The safety of heparins in end-stage renal disease**. July, august, 2006.

OLIVEIRA, A.C.B, Síntese, caracterização e avaliação do potencial anti-trypanossoma cruzi de cinco novos complexos de cobre (II) com beta dicetonas e bases heterocíclicas Uberlândia, MG, 2018.

PAIXÃO, D, A. **Síntese, Caracterização e Estudos biológicos envolvendo complexos de cobre (II) contendo hidrazidas N,N – doadores**; UFU, Minas Gerais, Brasil, 2017.

RAMPAZZO, L. **Metodologia Científica: para alunos dos cursos de graduação e pós-graduação**. Lorena: Stiliano, 1998.

ROCHA, P. D, et al. **Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana**; Química nova, vol.34, Nº.1,111-118, Uberlândia-MG, 2011.

SANTINI, C, et al. **Avanços em complexos de cobre como agentes anticancerígenos**. Química avaliações, 2014.

SCHNEIDER, A.L.S. et al. Caracterização química e Atividade biológica de extratos aquosos de *Brunfelsia cuneifolia* JÁ Schmidt (Solanaceae). Revista Brasileira de plantas medicinais, v.17, n.4, p. 1103-1111, 2015.

SILVA, Luciana, A. et al. **Cobre: produção industrial e aplicações**. Salvador: Química nova, 2019.

TIAGO, S.F. **Descrição teórica de complexos de metais de transição com ligantes hidrazona com potencial aplicação farmacológica** (Tese de Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de Brasília, UnB-Df, 2015.

TOMA, Henrique Eise. **Química de coordenação organometálico e catálise**. Editora Blucher, 2016.

TOSCANO, C.M; OLIVEIRA, W.K.; CARMO, E.H **Morbidade e mortalidade por doenças transmissíveis no Brasil, Ministério da Saúde. Saúde Brasil 2009: uma análise da situação de saúde e da agenda nacional e internacional de prioridades em saúde**. Brasília: ministério da saúde, 2010.

VEIGA, L.F, Vital NA, Portela MR, Oliveira FF. **Avaliação de faixa de sensibilidade de artemia salina ao Laenil sulfato de sódio**. Rio de Janeiro, Petrobrás/cenpes/supesq/diter, 1989.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V. J. Chemical stability of drug substances. Stability of drugs and dosage forms. New York: Kluwer Academic pub, 2002.

ZHANEL, G. G. et al. **The glycylicyclines: a comparative review with the tetracyclines**. Drugs, canada, n.64, p. 63-88, 2004.

ZHANEL, G. G. et al. The glycylicyclines: a comparative review with the tetracyclines. **Drugs**, Canada, n.64, p. 63-88, 2004.